

蒼朮精油의 Serotonin 遊離에 미치는 影響에 關한 研究*

The Effect of Atractylol Oil on the Serotonin Liberation

서울대학교 醫科大學 藥理學敎室
<指導 吳 鎮 燮 敎授>

李 恒 振

目 次

緒 論
實 驗 材 料
實 驗 方 法
實 驗 成 績
考 察
結 論
英 文 抄 錄
參 考 文 獻

緒 論

蒼朮은 菊科(Cardueacea)에 屬하는 *Atractylis Ovata Thunberg*¹⁾로서 韓國山野에 廣汎하게 野生하고 있으며 蒼朮이라 함은 이 根莖을 乾燥한 生藥(松田, 杉原²⁾)으로서 芳香性健胃劑, 發汗劑, 止瀉劑, 利尿劑, 鎮靜劑 等으로 使用되어 왔으며 民間藥으로서는 血壓降下劑³⁾로서 高血壓症, 動脈硬化症等에 使用되고 있다.

本生藥의 成分研究는 長井⁴⁾가 蒼朮에서 5~7%의 結晶性物質을 얻어 이를 *Atractylon* 이라고 命名하였으며 下山, 平野⁵⁾는 針狀의 結晶을 얻어 이를 *Atractylol* 이라고 命名하였고 그後 堀⁶⁾는 蒼朮의 水蒸氣蒸溜로서 一種의 sesquiterpene alcohol 을 分離하여 이를 *Atractylol* 이라 命名하고 高木⁷⁾, 兩宮 및 Gadamen⁸⁾에 의하여 *Atractylol* 은 C₁₅H₂₄O 라는 組成이 究明되었다.

高木, 本郷⁹⁾는 蒼朮은 精油 1.5%을 含有하고 있으며 이 精油中에서 結晶性物質을 얻어 *Atractylon*(C₁₄H₁₈O) 이라고 命名하였다. 吉岡, 高橋¹⁰⁾ 등은 이 精油에서 C₁₅H₂₄의 二環性 sesquiterpene 및 微量의 結晶을 얻고 또 溜分의 水層에서 acetaldehyde 와 furfuraldehyde 를 分離證明하였다.

그後 許, 洪¹¹⁾은 isovaleric acid 및 linolic acid 를 分離하고 著者 等¹²⁾은 蒼朮精油의 血清內 cholesterol 에

미치는 影響을 觀察하여 家兔血清內 cholesterol 量을 減少시키는 傾向이 있음을 報告한 바 있다.

金尙泰⁶⁾는 “白朮 및 蒼朮揮發油의 藥學的作用”을 報告하였다.

腦內 5HT 存在에 關해서는 Twarog, Page¹³⁾가 처음으로 *Venus mercenaria* 의 心臟을 使用한 生物學的檢定法으로 이를 確認發表한 바 있으며 Amin, Gaddum¹⁴⁾은 視床下部에 가장 高濃度로 5HT 가 存在함을 報告하고 Correale¹⁵⁾은 特히間腦, 中腦에 많이 含有되어 있다고 하였다.

今般著者는 蒼朮精油가 金線蛙⁶⁾의 中樞神經에 對하여 少量에서 鎮靜作用, 大量에서 麻痺作用이 있으며 家兔血壓에 있어서 一過性下降을 招來하고, 生藥으로 鎮靜劑로 使用되고 또 民間藥으로 高血壓症에 使用됨에 비추어 serotonin (5-hydroxytryptamine 以下 5HT 로 表示) 과 密接한 關聯性이 있음을 推測하여 5HT 遊離作用에 미치는 影響을 reserpine 에 依한 5HT 遊離作用과 比較觀察하고 또 monoamine oxidase(以下 MAO 로 表示) 및 decarboxylase (以下 DCX 로 表示)의 activity 와의 關聯性을 reserpine 으로 因한 作用과 比較한 바 있어 이에 얻은 成績을 茲에 報告하는 바이다.

實驗材料 및 實驗方法

1. 實驗材料

蒼朮 80 kg 를 細切해서 水蒸氣蒸溜하여 얻은 精油를 5% 炭酸소-다溶液으로 洗滌한 다음 蒸溜水로 洗滌하여 이를 ether 에 移行시켜 ether 可溶性分을 蒸發하여 可能한 限 ether 를 完全除去한 精油 800 g 를 얻어 이를 實驗에 使用하였다(이 精油中에서 結晶性物質은 얻지 못하였다).

2. 實驗動物

(i) 家兔: 體重 2.0 kg 內外의 成熟家兔를 性別의 區別없이 使用하였다.

(ii) Rat: 體重 200 g 內外의 Sprague dowley 系의 albino rat 를 雌雄을 不問하고 使用하였다.

* 本論文의 第1報는 第14回 大韓藥理學會學術大會에서 發表되었음. (1962. 10. 28)

(iii) 大蛤(Meretrix lusoria) : 新鮮한 大蛤을 撰擇하여 心臟을 摘出하여 人工海水中에서 規則的인 膊動을 維持하는 것을 使用하였다.

3. 實驗에 使用한 試藥

(i) Serotonin creatinin sulfate (5 HT):

National Biochemical Cooperation

(ii) 5-Hydroxytryptophan (5 HTP):

National Biochemical Cooperation

(iii) 5-Hydroxyindole acetic acid (5 HIAA)

Mann Research Laboratories

(iv) Iproniazid phosphate (IIH):

Hoffman La Roche Inc.

(v) Pyridoxal phosphate:

Mann Research Laboratories

實驗 方法

1. 家兔血壓는 미치는 影響

體重 2.0 kg 內外의 家兔를 pentobarbital sodium 30.0 mg/kg 로 麻醉後 背位固定하여 頸部에 正中切開를 加하고 總頸動脈을 完全히 露出한 다음 總頸動脈上部를 結紮, 이에 arterial cannula 를 挿入 水銀 manometer 에 連結하여 kymograph 煤煙紙上에 描記하였다. 蒼朮精油는 耳靜脈에 注射하였다.

2. 家兔腦灌流에 依한 5 HT 遊離의 生物學的 檢定

(i) 腦灌流法: 出村¹⁶⁾의 方法에 依하여 家兔에 pentobarbital sodium 30.0 mg/kg 를 耳靜脈에 徐徐히 注射하여 麻醉시킨 後 背位固定하고 前頸部에 縱切開를 加하여 氣管을 露出하고 이에 cannula 를 挿入하여 respiration pump 에 連結시켜 9 r.p.m.(respiration per minute)의 人工呼吸을 維持시키고 氣管을 cannula 挿入部上位에서 切斷하였다.

食道는 結紮後 結紮上部에서 切斷하고 頭測으로 釘겨 固定하여 操作에 便利하게 하였다.

左側總頸動脈을 露出시킨後 이를 結紮하고 이 上位部에 arterial cannula 를 挿入하였다. 다음 正中椎骨靜脈을 露出結紮한 後 左側總頸動脈을 除外한 兩側頸動脈 및 頸靜脈을 結紮한 後 左側內頸靜脈에 cannula 를 挿入하여 灌流液을 採取하였다.

그後 腹部에 正中切開를 加하여 腹腔動脈, 上腸間膜動脈, 下腸間膜動脈과 肝臟下面에서 門脈을 結紮하였다.

(ii) 蒼朮精油와 reserpine 의 投與: 灌流液은 Tyrode solution 을 使用하였으며 이때 oxygenation 과 保溫에 留意하여 壓力은 家兔頸動脈壓과 比等한 壓力을 維持시켰다. 藥物の 投與는 前記 arterial cannula 를 通하여 蒼朮精油 10.0mg/kg, reserpine 5.0 mg/kg를 注入하였다.

(iii) 灌流液의 採取: 前記 cannula 에서 採取하였으

며 이때 血液內의 特히 血小板에서 遊離된 5 HT 의 混入을 防止코져 灌流液中에 血液의 混入이 없어진 後에 비로서 採取를 始作하여 처음 10 分間의 採取液을 對照로 하고 檢體投與後 10 分間隔으로 採取하여 5 HT 의 生物學的 檢定을 하였다.

(iv) 5 HT 의 生物學的檢定: 分割採取한 灌流液에서 6.0 ml 를 取하여 4 倍容量의 冷 aceton 을 加하여 4°C 에서 48 時間 放置한 後 2,500 r.p.m. 으로 20 分間 遠心沈澱後 上清液을 40°C 에서 減壓蒸發하여 溶媒를 溜去한다음 人工海水에 蒸發殘渣가 全量 2.0 ml 가 되도록 溶解시켜 그中 1.0 ml 를 取하여 大蛤摘出心臟을 使用 生物學的 檢定을 하였다.

이 檢定은 小型 magnus 裝置內에 大蛤摘出心臟을 固定하고 灌流液으로는 人工海水를 使用 이에 空氣를 通하면서 灌流液抽出物과 標準 5 HT 의 作用을 比較測定 하였다.

3. Rat 血液內 5 HT 含量

Rat 에 蒼朮精油 10.0mg/kg, reserpine 5.0mg/kg 를 各 各 腹腔內注射하고 1 時間後에 pentobarbital sodium 30.0 mg/kg 로 麻醉시킨 後 縱切開를 加하여 開腹 Feldberg, Toh¹⁷⁾ Toh¹⁸⁾, 深田¹⁹⁾ 等의 方法에 依하여 門脈에서 血液 3.0 ml 를 採取하여 吉原²⁰⁾의 方法에 依하여 4 倍量의 冷 aceton 을 加하고 48 時間冷置後 5 分間 2,500 r.p.m. 으로 遠心沈澱하여 그 上清液(aceton layer)를 取하고 그 殘渣에 2 倍量의 aceton 을 加하여 다시 遠心沈澱하여 이 上清液과 前記 上清液을 合하여 減壓으로서 aceton 을 가능한 限 完全除去한 다음 5 HT 의 生物學的 檢定을 하였다.

對照群은 生理的食鹽水를 5.0 ml/kg 씩 腹腔內注射한 後 上述한 方法으로 實驗하였다.

4. Rat 腸管內 5 HT 含量

rat 에 蒼朮精油 10.0 mg/kg, reserpine 5.0 mg/kg 를 各 各 腹腔內注射하고 1 時間後에 深田¹⁹⁾의 方法에 依하여 sodium nembutal 30.0mg/kg 를 腹腔內注射後 縱切開를 加하여 開腹하고 幽門部, 十二指腸, 空腸의 一部를 切取하여 摘出直後에 生理的 食鹽水로 內容物을 洗滌한 後 水分을 除去하고 2.0 g 를 取하여 homogenate 를 作成하였다.

이 homogenate 에 4 倍量의 冷 aceton 을 加하여 充分히 振盪하고 18 時間 冷置後 5 分間 2,500 r.p.m. 로 遠心沈澱하여 上清液(aceton layer)를 取하고 殘渣는 다시 aceton 을 加하여 抽出한 後 全 aceton 抽出液을 40°C 以下에서 減壓蒸發시켜 殘渣를 얻었다.

이 殘渣를 methanol 2.0 ml 로 溶解시킨 後 active aluminum column(1.3×22 cm)에 展開시키고 無水 methanol 과 80%, 60% methanol 를 各 各 50.0 ml 씩

流入流出시킨 後 40%, 20% methanol를 다시 各各 25.0 ml씩 注入하고 最後로 蒸溜水 25.0 ml를 注入하여 溶出液을 10.0 ml씩 分割採取 하였다.

各溶出液에서 前記生物學的 檢定法으로 5 HT 量을 測定하고 同一腸管溶出液內 5 HT 量을 算出하여 腸管 1.0 g 內 5 HT 含量으로 하였다.

對照群은 生理的 食鹽水 5.0 ml/kg를 腹腔內注射한 後 上記方法으로 實驗하였다.

5. Rat blood monoamine oxidase 에 미치는 影響

Rat 에 IHH 200.0 ml/kg 와 蒼朮精油 10.0 mg/kg, reserpine 5.0 mg/kg 를 各各 腹腔內注射하고 1 時間後에 pentobarbital sodium 30.0 mg/kg 로 麻醉시킨 다음 縱切開로 開腹하여 門脈에서 3.0 ml씩 採血하여 blood 5 HT 實驗과 同一한 方法으로 5 HT 量을 測定하였다.

6. Rat kidney decarboxylase activity 에 미치는 影響

Rat kidney 에 있어서 DCX activity 에 미치는 影響을 觀察하고자 rat kidney 를 粗酵素로서 使用하였다.

林²¹⁾의 方法에 依하여 rat 를 decapitation 하고 開腹하여 kidney 를 摘出 이를 急速히 冷凍脫脂하고 metal blender 中에서 冷蒸溜水 25.0 ml 를 加하고 一分以內에 糊狀 homogenate 를 調製하여 使用하였다.

이 homogenate 2.0 ml 에 pH 8.0 의 Krebs phosphate buffer solution 0.3 ml 를 加하고 充分히 振盪하여 이를 特別裝置의 Y 形 incubation tube 에 注入한다음 이에 pyridoxal phosphate 100 μg(0.5 ml) 5 HTP 100 μM (0.5 ml)를 加하고 蒼朮精油는 0.4 mg(0.2 ml), reserpine 은 0.04 mg(0.2 ml)를 各各 加하여 總量 3.5 ml 로 한다.

이 tube 를 密閉하고 一側의 stop cock 에서는 空氣를 吸引하고 他側 stop cock 에서는 nitrogen gas 를 注入, 充填한 後 密檢한다. 이 incubation tube 를 35°C 에서 30 分間 incubate 한 다음 內容物을 4 倍量의 冷 acetone 을 加하여 抽出한 後 5 分間 2,500 r.p.m. 로 遠心沈澱하고 acetone layer 를 取하여 5 HT 의 生物學的檢定을 하였

다.

이때 rat kidney 의 DCX activity 의 個體差를 考慮하여 同一한 tissue homogenate 를 實驗群 및 對照群에 使用하였다.

對照群은 蒸溜水를 加하여 總量 3.5 ml 로 하여 前記 實驗方法으로 5 HT 의 生物學的檢定을 하였다.

7. Rat urine 內의 5 HIAA 排泄量

Ratlife²²⁾, Pierce²³⁾, 李²⁴⁾等의 方法에 依하여 體重 200 g 內外의 rat 를 分離飼育하고 蒼朮精油 10.0 mg/kg, reserpine 5.0mg/kg 를 各各 腹腔內注射한 다음 12 時間의 尿를 25.0ml 의 glacial acetic acid 와 3.0 ml toluen 을 添加한 容器에 採取, 秤量後 그 中 5.0 ml 를 試驗管에 取하여 이에 NaCl 2.0 g, ether 25.0 ml 를 加하여 充分히 混合시킨 後 遠心沈澱하여 上清 ether 層 20.0 ml 를 side arm flask 에 取하여 減壓蒸發한 다음 이 殘渣에 蒸溜水 4.0 ml 를 加한다.

이中에서 2.0 ml 를 取하여 nitrosonaphthol reagent 1.0 ml 와 nitrous acid reagent 1.0 ml 를 加하여 混合시킨 後 56°C water bath 內에서 5 分間 放置시킨 다음 ethyl acetate 10.0 ml 를 加하여 室溫에서 30 分間 放置한다.

이 ethyl acetate 層의 下層液을 cuvet 에 取하여 波長 525 mμ 에서 reagent blank 에 對한 各 試驗值를 Spectronic 20 colorimeter 로 平準曲線에 依據 判讀하고 Beer's law 와 下記式에 依하여 5 HIAA 值를 算出하였다.

$$\frac{12 \text{ hrs urine(ml)} \times \text{mg}}{1000} = 5 \text{ HIAA(mg)} / 12 \text{ hrs}$$

blank 는 蒸溜水 2.0 ml 에 前記와 同一한 操作을 하여 使用하였다.

이때 Bausch & lomb spectronic 20 colorimeter 와 Bausch & lomb 의 test tube 를 使用했으며 nitrous acid reagent 는 使用時 每回 新調하였다.

實驗成績

1. 家兔血壓에 미치는 影響

Table 1. 5 HT content in brain perfusate following perfusion of Atractylol oil(10.0 mg/kg) in rabbit(μg/ml).

time(min)	10	20	30	40	50
animal No.					
1	1.13	0.67	0.63	0.34	0.31
2	1.02	0.68	1.01	1.00	0.61
3	1.24	1.22	1:09	0.34	0.12
4	0.64	0.62	1.03	0.51	0.39
5	0.87	0.96	0.37	0.74	0.67
6	0.86	0.54	0.51	0.42	0.35
mean±S.D.	0.96±0.19	0.78±0.24	0.77±0.28	0.56±0.24	0.41±0.18

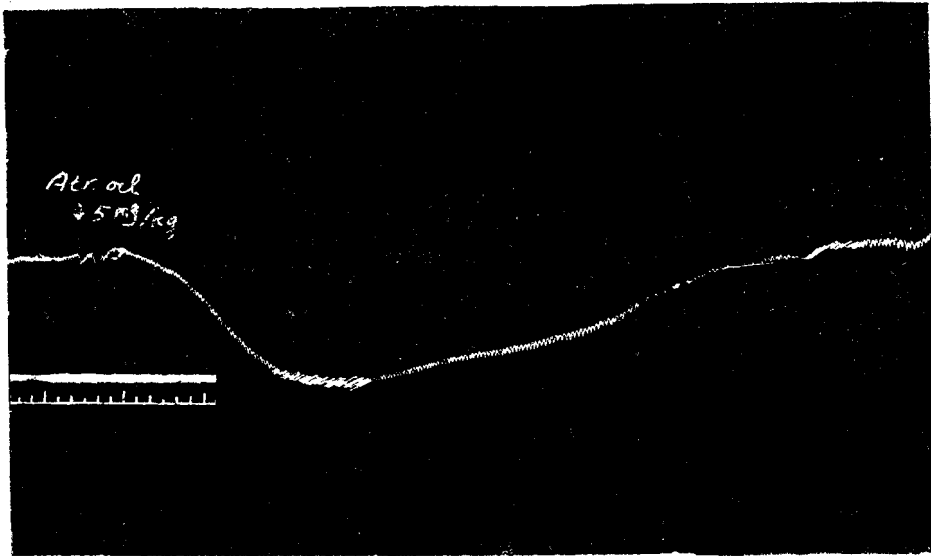


Fig. 1 蒼朮精油 5.0 mg/kg 投與實驗. 時秒: 10 秒

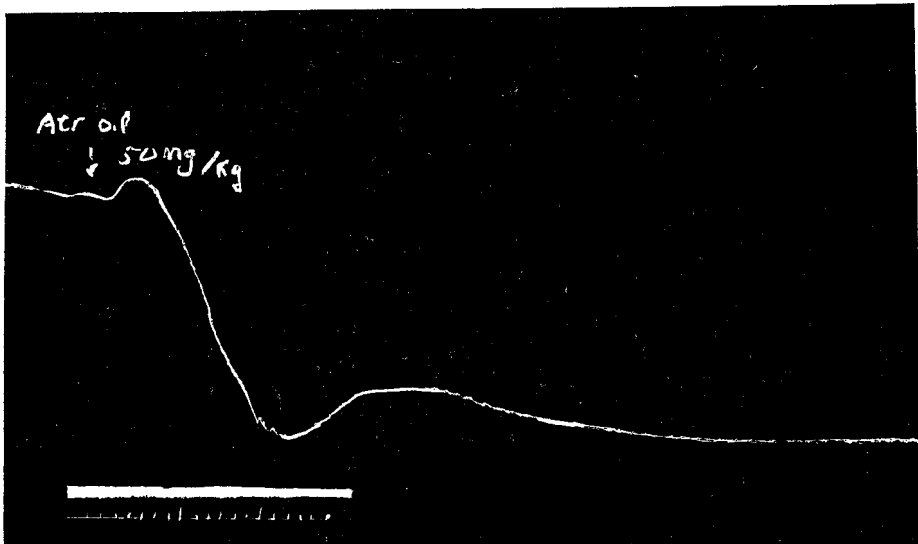


Fig. 2 蒼朮精油 50.0 mg/kg 投與實驗. 時秒: 10 秒

蒼朮精油 2.0 mg/kg 以下에서는 家兔血壓에 別作用이 나타나지 않으며 2.0 mg/kg 以上에서 血壓은 下降하기 始作하여 5.0 mg/kg 에서는 顯著한 下降을 보이나 곧 正常值로 恢復 하고 25.0 mg/kg 에서는 顯著히 下降하여 緩慢한 恢復을 보이고 50.0 mg/kg 에서는 急激히 下降하여 長時間에 걸쳐 正常值로 恢復되지 않았다 (Fig. 1, Fig. 2 參照).

2. 家兔腦灌流液內的 5HT 含量

家兔腦灌流液內的 5HT 遊離量은 第1表와 같다. 灌流液中的 血液消失後 5HT 를 檢定하였으나 認定치 못하였다.

다음 蒼朮精油 10.0 mg/kg 를 投與한 後 10分後부터 每 10分마다 測定한 5HT 量은 10分에서 0.96 μ g/ml 의 最高值를 보이고 그後 漸次 減少하는 傾向이 있다.

Table 2. 5HT content in brain perfusate following perfusion of reserpine (5.0 mg/kg) in rabbit. ($\mu\text{g/ml}$)

time(min)	10	20	30	40	50
animal No.					
1	0.81	0.59	0.56	0.45	0.36
2	1.36	1.45	1.25	1.09	1.03
3	1.03	0.97	0.85	0.87	0.62
mean \pm S.D.	1.07 \pm 0.23	1.00 \pm 0.35	0.89 \pm 0.28	0.80 \pm 0.27	0.67 \pm 0.28

이는 reserpine 5.0 mg/kg 投與時成績(第 2 表) 即 10 分後 1.07 $\mu\text{g/ml}$ 로 最高值에 達한 後 漸次 減少하는 傾向과 같으며 이 reserpine 投與時의 成績은 出村¹⁶⁾의 結果와 一致한다.

3. Rat blood 內的 5 HT 含量

正常 rat blood 內的 5 HT 量과 蒼朮精油 10.0 mg/kg. reserpine 5.0 mg/kg 를 腹腔內注射後 1 時間의 blood 內的 5 HT 量을 生物學的 檢定을 한 成績은 第 3 表와 같다.

Table 3. Changes of venous blood 5HT contents of rats in 60 minutes after the intraperitoneal administration of Atractylol oil (10.0mg/kg) and reserpine(5.0 mg/kg) ($\mu\text{g/ml}$ of blood)

animal No.	Control	Atractylol oil	Reserpine
1	0.57	0.83	0.62
2	0.43	0.86	0.56
3	0.42	0.83	0.65
4	0.49	0.83	0.46
5	0.38	0.82	0.47
6	0.63	0.80	0.53
mean \pm S.D.	0.49 \pm 0.089	0.83 \pm 0.018	0.55 \pm 0.071

對照群의 5 HT 含量의 平均値 0.49 $\mu\text{g/ml}$ 에 比하여 蒼朮精油投與群은 0.83 $\mu\text{g/ml}$ 로 顯著한 增加를 보였으며 reserpine 投與群은 0.55 $\mu\text{g/ml}$ 로 若干의 增加를 보였다.

4. Rat 腸管內的 5 HT 含量

正常 rat 腸管 1.0 g 內 5 HT 含量과 蒼朮精油 10.0 mg/kg. reserpine 5.0 mg/kg 를 各各 腹腔內注射한 後 1 時間에 있어서의 腸管 1.0 g 內 5 HT 含量은 第 4 表와 같다.

蒼朮精油投與時 腸管內 5 HT 含量의 平均値는 0.89 $\mu\text{g/g}$ 로서 對照群의 平均値 1.49 $\mu\text{g/g}$ 에 比해 顯著히 減少되었으며 reserpine 投與時는 1.13 $\mu\text{g/g}$ 로 若干의 減少를 보였다.

5. Rat blood monoamine oxidase activity 에 미치는 影響

第 5 表의 結果와 같이 rat 에 IIH 200.0 mg/kg 를 腹腔內注射한 後에 血中 5 HT 는 0.72 $\mu\text{g/ml}$ 로서 正常 rat 血中 5 HT 值 0.49 $\mu\text{g/ml}$ (第 3 表 參照)에 比해 顯著히

Table 4. Changes of intestinal 5HT contents of rats in 60 minutes after the intraperitoneal administration of Atractylol oil (10.0mg/kg) and reserpine(5.0 mg/kg) ($\mu\text{g/g}$ of tissue)

No. animal	Control	Atractylol oil	Reserpine
1	1.24	0.81	1.0
2	1.56	1.08	1.10
3	1.59	0.74	1.13
4	1.21	0.77	1.20
5	1.18	0.92	1.20
6	2.19	1.02	1.13
mean \pm S.D.	1.49 \pm 0.385	0.89 \pm 0.14	1.13 \pm 0.053

Table 5. Changes of venous blood 5HT contents of IIH(200.0 mg/kg) treated rats in 60 minutes after the intraperitoneal administration of Atractylol oil(10.0 mg/kg) and reserpine (5.0 mg/kg) ($\mu\text{g/ml}$ of blood)

animal No.	Control	Atractylol oil	Reserpine
1	0.71	0.80	0.73
2	0.74	0.77	0.71
3	0.71	0.79	0.83
4	0.69	0.77	0.77
5	0.67	0.75	0.75
6	0.79	0.83	0.91
Mean \pm S.D.	0.72 \pm 0.038	0.79 \pm 0.026	0.79 \pm 0.069

增加하였으며 蒼朮精油 10.0 mg/kg, IIH 200.0 mg/kg 併用時는 0.79 $\mu\text{g/ml}$ 로서 蒼朮精油 單獨投與時의 血中 5 HT 值 0.83 $\mu\text{g/ml}$ (第 3 表 參照)에 比해 若干의 減少를 보이고있다.

reserpine 5.0 mg/kg, IIH 200.0 mg/kg 併用時는 0.79 $\mu\text{g/ml}$ 로서 reserpine 單獨投與時의 血中 5 HT 值 0.55 $\mu\text{g/ml}$ (第 3 表 參照)에 比해 顯著히 增加되었었다.

6. Rat kidney decarboxylase activity 에 미치는 影響

Rat kidney tissue 에서 5-hydroxytryptophan(5HTP) 이 5 HTP 脫炭酸酵素 decarboxylase(DCX)의 作用에 依하여 5 HT 로 生成되는 過程에 있어서 *in vitro* 로 蒼

朮精油 0.4 mg 및 reserpine 0.04 mg 投與時 5 HT 生成量の變化를 觀察한 實驗成績은 第 6 表와 같다.

Table 6. Recovery ratios of 5 HT from rat kidney homogenates incubated for 30 minutes *in vitro* with 5 HTP only, 5 HTP with Atractylol oil(0.4 mg) and reserpine(0.04 mg)

No. of trial	Control		Atractylol oil		Reserpine	
	5HT*	ratio	5HT	ratio	5HT	ratio
1	1.2	1	1.24	1 : 1.00	1.48	1 : 1.23
2	0.72	1	0.84	1 : 1.17	0.87	1 : 1.21
3	1.2	1	1.24	1 : 1.00	1.38	1 : 1.15
4	1.2	1	1.21	1 : 1.00	1.22	1 : 1.02
5	0.72	1	0.89	1 : 1.24	0.94	1 : 1.31
6	0.88	1	0.92	1 : 1.06	1.15	1 : 1.31
mean ratio	1		1 : 1.08		1 : 1.21	

* μg

對照群 5 HT 生成量を ratio 1.0 로 定한 rate 는 蒼朮精油投與時 1.0 : 1.08 로 若干의 增加를 보이고 reserpine 投與時는 1.0 : 1.21 로 顯著한 增加를 보이고 있다.

7. Rat urine 內의 5 HIAA 排泄量

蒼朮精油 10.0 mg/kg 및 reserpine 5.0 mg/kg 를 各 各 腹腔內注射 後 12 時間에 排泄된 尿中의 5 HIAA 量은 第 7 表와 같다.

蒼朮投與時는 18.4 μg 로서 對照群 12.17 μg 에 比하여 顯著히 增加하였으며 reserpine 投與時는 14.44 μg 로 若干의 增加를 보이고 있다.

Table 7. Comparison of the 12 hours urinary excretion of 5 HIAA in Atractylol oil(10.0 mg/kg) and reserpine(5.0 mg/kg) treated rats. (μg)

animal No.	Control	Atractylol oil	Reserpine
1	11.0	18.8	12.58
2	13.0	15.0	17.1
3	15.0	19.8	14.04
4	9.8	22.7	15.8
5	11.6	19.5	13.4
6	12.6	14.5	13.7
mean \pm S.D.	12.17 \pm 1.79	18.4 \pm 3.11	14.44 \pm 1.63

考 察

蒼朮精油에 依한 5 HT 遊離作用을 檢討하고 reserpine 의 5 HT 遊離作用과 比較하였다. reserpine 投與로 腦內 5 HT 가 遊離되어 bound form 5 HT 量이 減少됨은 이미 Pletscher, Shore, Brodie²⁵⁾에 依하여 發表된 바 있으며 最近에는 Green, Sawyer²⁶⁾에 依하여 詳細히 研

究報告되었다.

Brodie, Pletscher, Shore²⁷⁾ 등은 家兔에 reserpine 을 投與한 結果 30 分後에 全腦 5 HT 量은 75% 減少 4 時間 後에는 90% 까지 減少함을 보았다. 出村¹⁶⁾은 胃腸粘膜炎의 5 HT 遊離를 防止한 腦灌流法에 依한 實驗에서 家兔에 reserpine 投與後 이 灌流液에서 5 HT 遊離를 證明하여 腦內 5 HT 가 reserpine 에 依하여 遊離되어 血中移行함을 報告하였다.

腦內 5 HT 에 關하여서는 이 5 HT 가 中樞神經에서 神經刺戟傳導의 媒介作用을 하는 neurohormone 이며 reserpine 의 中樞神經에 對한 鎮靜作用은 그 藥物自體의 作用보다도 腦內 5 HT 의 遊離로 因하여 mediate 됨이 究明²⁵⁾되었다.

著者의 家兔腦灌流實驗에서 腹腔動脈, 上腸間膜動脈, 下腸間膜動脈, 門脈等을 結紮하므로써 胃腸粘膜炎으로부터 5 HT 가 血中으로 遊離되어 腦로 流入함을 防止하고 血小板 5 HT 를 考慮하여 血液의 混入이 없는 灌流液을 擇하여 生物學的 檢定에 使用하였다.

따라서 이 實驗成績의 5 HT 量은 腦內에서 遊離된 5 HT 量을 表示하는 것이다.

蒼朮精油 10.0 mg/kg 를 家兔腦灌流한 結果 實驗動物에 對한 個體差는 크나 灌流液中의 5 HT 量은 增加하였으며 이 增加는 大體로 10 分~20 分에서 最高量에 達하고 50 分에 걸쳐 漸次的으로 減少되는 傾向이 있다. 이는 出村¹⁶⁾의 reserpine 5.0 mg/kg 를 投與한 實驗에 있어서 15 分~30 分에서 最高量에 達한 後 徐徐히 減少된다는 結果와 같다고 思料된다.

Green, Sawyer²⁶⁾에 依하면 一般的으로 動物腦內의 stored reserves 5 HT (bound form)는 生理的으로 active free form 5 HT 로 恒常 供給되며 이 free form 5 HT 는 MAO 作用으로 excessive level 로 蓄積되지 않으며 stored reserves form 5 HT 와 free form 5 HT 間에는 dynamic steady relationship 이 있음을 發表한 바 있다.

今般 著者의 家兔腦灌流實驗에서 蒼朮精油가 reserpine 作用과 類似하게 腦 5 HT 를 遊離하여 灌流液中에서 增加한 後 漸次的으로 減少함은 Green, Sawyer²⁶⁾의 指摘한 바와 같이 stored reserves 5 HT 가 遊離되어 free form 5 HT 로 變하는 過程이 free form 5 HT 가 MAO 로 metabolize 되는 過程보다 速하므로 灌流液中의 5 HT 量의 增加를 招來하는 것으로 思料된다.

Erspamer²⁸⁾는 大部分의 動物에 있어서 體內總 5 HT 量의 60~90% 가 消化管에 含有되고 있으며 이 5 HT 는 腸運動亢進과 密接한 關聯이 있음이 Freyburger²⁹⁾ 등에 依하여 報告되었다. 著者實驗에서 腸管 5 HT 量은 蒼朮精油 및 reserpine 投與로 減少되는데 反하여 V. portae

의 血中 5HT 量은 增加됨을 볼 수 있다. 이때 蒼朮精油群은 reserpine 投與群에 비해 腸管 5HT 量이 減少되고 血中 5HT 量은 增加되었다.

이 血中 5HT 量의 增加는 Carlsson, Shore, Brodie³⁰⁾의 reserpine 投與實驗結果와 같은 傾向을 보인다.

深田¹⁹⁾의 reserpine 投與實驗과 比較하면 深田 實驗에서는 腸管内 5HT 量이 對照群에 比하여 約 70%나 減少하였으나 著者の 實驗에서는 約 20%의 減少를 볼 수 있었고 V. portae 의 血中 5HT 量은 深田의 16~20 時間의 實驗에서는 顯著히 減少하였으나 著者の 1 時間의 實驗에서는 增加를 보였다.

이는 著者の 蒼朮精油 및 reserpine 投與後 1 時間에 採血한데 比하여 深田는 16~20 時間後에 採血하였으므로 그間에 많은 血中 5HT 가 MAO 作用으로 因하여 5HIAA 로 酸化되었으므로 血中 5HT 量이 減少한 것으로 思料된다.

腸管内 5HT 量에 있어서 蒼朮精油投與群이 reserpine 投與群에 比하여 顯著히 減少됨은 5HT 가 bound form 으로 부터 free form 으로 遊離되므로 腸管内 5HT 量의 減少를 招來하는데 蒼朮精油의 5HT 遊離能이 reserpine 에 比하여 強하다고 認定된다.

MAO inhibitor 로 使用되는 IIH 로 因한 rat 血中 5HT 量 實驗成績에 있어서 IIH 處置群의 蒼朮精油 및 reserpine 投與時 血中 5HT 量은 對照群에 比하여 各各 增加되는 傾向을 보였으나 兩者의 差異는 認定치 못하였으며 正常 rat 血中 5HT 量은 0.49 $\mu\text{g/ml}$ (第 3 表) 인데 IIH 200.0 mg/kg 投與로서 0.72 $\mu\text{g/ml}$ 로 約 40%. reserpine 單獨投與群에서는 0.55 $\mu\text{g/ml}$ (第 3 表). IIH 併用投與群 0.79 $\mu\text{g/ml}$ 로서 前者와 같은 約 40%의 增加를 보인데 比하여 蒼朮精油는 單獨投與時 0.83 $\mu\text{g/ml}$. IIH 併用投與時 0.79 $\mu\text{g/ml}$ 로서 別差異를 認定치 못하였다.

上記의 reserpine 및 IIH 併用時의 結果는 Green, Erickson³¹⁾의 腦内 5HT 에 對한 reserpine 및 IIH 併用實驗成績과 一致하며 蒼朮精油 및 IIH 併用時 別差異가 없음을 蒼朮精油가 IIH 의 MAO 抑制作用을 低下시키는 것인지 或은 他酵素系^{32, 33, 34)}에 對한 作用인지 斷定키 困難하다.

DCX activity 에 對한 影響을 觀察한 結果 對照群의 5HT 生成量을 1.0 로 定하고 그 rate 를 比較하면 reserpine 投與時 1.21 로서 蒼朮精油投與時의 1.08 에 比해 顯著히 높은 recovery rate 를 보이고 있다.

Shore, Silver, Brodie³⁵⁾는 犬에 reserpine 을 投與한 後 그 尿中에 5HT 의 分解產物인 5HIAA 의 顯著한 增加를 보았다. 이 reserpine 으로 因한 腦 5HT 의 減少와 尿中 5HIAA 의 逆比例關係를 出村¹⁶⁾는 reserpine

投與로 遊離된 腦 5HT 의 一部는 MAO 作用으로 곧 分解되어 5HIAA 로 되나 free 5HT 의 一部는 血液腦關門을 通하여 血中移行. MAO 가 存在하는 肝臟, 腎臟, 肺臟, 胃腸粘膜 等に 到達하여 分解되어 5HIAA 로 尿中排泄되므로 腦内에서의 5HIAA 와 더불어 尿中增加를 招來 한다고 觀察하고 있다.

著者の 尿中 5HIAA 實驗에서 12 時間의 尿中 5HIAA 量은 對照群에 比하여 蒼朮精油投與時 顯著히 增加되었으며 reserpine 投與時는 若干增加되었다.

蒼朮精油 및 reserpine 을 投與한 血中 5HT, 尿中 5HIAA 兩實驗에서 血中 5HT 量의 增加와 尿中 5HIAA 量의 增加는 併行關係에 있음을 알 수 있다.

Carlsson³⁰⁾은 Rauwolfia alkaloid 中 血小板 5HT 遊離能에 있는 것만이 鎮靜作用이 있으며 鎮靜作用의 強度는 5HT 遊離量에 比例한다고 하였다.

一方 吉原²⁰⁾는 tranquillizer 作用이 없는 藥物도 血小板 5HT 를 遊離함을 證明하여 5HT 遊離作用이 바로 tranquillizer 作用이라는 說을 否認하였다.

蒼朮精油의 5HT 遊離에 미치는 影響은 reserpine 의 5HT 遊離作用과 類似하며 腦内 5HT, 腸管内 5HT 를 遊離하고 血中 5HT 量은 增加되었으며 尿中 5HIAA 排泄量도 reserpine 投與時와 같은 傾向을 보였다.

結 論

蒼朮精油의 血壓降下作用과 5HT 遊離作用 MAO 및 DCX activity 에 미치는 影響을 reserpine 의 作用과 比較檢討하였다.

(1) 蒼朮精油의 血壓降下作用은 少量에서는 一過性으로 下降하며 大量에서는 持續적인 降下作用을 보였다.

(2) 蒼朮精油로 因한 家兔腦灌流液中的 5HT 의 遊離度는 藥物投與後 10~20 분에 最高值에 達하고 漸次로 減少하였으며 이는 reserpine 投與時와 類似的한 傾向을 보였다.

(3) 蒼朮精油 및 reserpine 投與로 因한 rat 腸管内 5HT 量은 各各 對照群에 比해 減少되는 傾向을 보이며 蒼朮精油가 reserpine 에 比하여 減少도가 顯著하다.

(4) 蒼朮精油 및 reserpine 投與로 因한 rat 血中 5HT 量은 對照群에 比해 各各 增加되는 傾向을 보였으며 蒼朮精油群이 reserpine 群에 比하여 增加도가 顯著하다.

IIH 處置群에서는 蒼朮精油 및 reserpine 投與로 因한 血中 5HT 量은 對照群에 比하여 各各 增加되는 傾向을 보였으나 兩者의 差異는 認定치 못하였다.

(5) *in vitro* 에서는 rat kidney 의 DCX activity 는 蒼朮精油 및 reserpine 投與로 對照群에 比하여 各各 增加되는 傾向을 보이며 蒼朮精油投與群과 reserpine 投與

群과의 生成量の ratio(對照群을 1.0 로)는 1.08 : 1.21 이다.

(6) Rat urine 內 5HIAA 排泄量은 蒼朮精油 및 reserpine 投與時 對照群에 比하여 各各 增加되었으며 蒼朮精油群이 reserpine 群에 比하여 顯著히 增加되었다.

(擧筆함에 있어서 指導와 校閱을 하여 주신 恩師 吳鎮燮 教授, 協助하여 주신 洪思岳 副教授, 林定圭 講師에게 深甚한 敬意를 올리며 本實驗에 甚대한 勞苦를 끼친 金溶斗 先生 外 敎室員 諸位에게 深謝하는 바입니다).

ABSTRACT

The Effect of Atractylol Oil on the Serotonin Liberation

Hang Jeen Rhee, M.D.

Department of Pharmacology, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea

(Director: Prof. Jin Sup Oh, M.D.)

The effects of Atractylol oil on the blood pressure, 5-hydroxytryptamine (Serotonin, 5HT) liberation, monoamine oxidase-, decarboxylase activity and urinary excretion of 5-hydroxyindole acetic acid (5HIAA) were studied and compared with those of reserpine.

1. A small dose of Atractylol oil caused transitory, while a larger dose sustaining fall of blood pressure.

2. 5HT liberation of rabbit brain perfusate reached its peak at 10 to 20 minutes after the administration of Atractylol oil, which was followed by a gradual decrease. This similar effects were observed with reserpine.

3. Intestinal 5HT content of rat appeared to decrease by both of Atractylol oil and reserpine, in which the effect of Atractylol oil was more marked than reserpine.

4. Venous blood 5HT content of rat tended to increase by both of Atractylol oil and reserpine, in which the effect of Atractylol oil was also more marked than reserpine. The similar effect were observed in the 1-isopropyl-2-isonicotinylhydrazine (iproniazid) (IIP) treated animals, however, there existed no differences between Atractylol oil and reserpine.

5. Atractylol oil and reserpine tended to increase the decarboxylase activity of the rat kidney. The ratios of increase were 1.08 with Atractylol oil and 1.21 with reserpine, provided for the mean value in control animals was 1.0.

6. 5HIAA urinary excretion in rats tended to increase in Atractylol oil and reserpine administrated animal groups. The effect of Atractylol oil was more prominent than that of reserpine.

REFERENCES

- 1) 鄭台鉉: 韓國植物圖鑑下卷 676 (1956)
- 2) 松田: 植物學雜誌 第 296 號 (1911)
- 3) 杉原, 石戶谷: 鮮滿之醫界 第 72 號 (1927)
- 4) 林基興: 나뭇잎에 對하여, 藥師會誌 4, No 6, 36(1963)
- 5) 長井: 藥學雜誌 第 128 號 (1892)
- 6) 金尙泰: 白朮及 蒼朮揮發油의 藥物學的 作用ニ就テ, 朝鮮醫學會誌 第 83 號 (1927) 에서 引用
- 7) 高木: 藥學雜誌 第 473 號 (1921)
- 8) 雨宮, Gadamen: Arch. Pharm. 241, 22 (1903)
- 9) 高木誠司, 本郷銀作: 藥學雜誌 44, 539, 1001 (1924)
- 10) 吉岡一郎, 高橋眞太郎: 日本生藥學會講演 (1958)
- 11) 許鈴, 洪思岳: 蒼朮의 成分研究, 藥學雜誌 2, 8 (1953)
- 12) 李恒振, 李容采, 金東秀, 洪思岳: 蒼朮의 精油成分의 家兔血清內 Cholesterol 에 미치는影響, 中央醫學 1, No. 8, 813 (1961)
- 13) Betty M. Twarog and Irvin H. Page: Serotonin Content of Some Mammalian Tissues and Urine and Method for Its Determination Am. J. Physiol. 175, 157 (1953)
- 14) A.H. Amin, T.B.B. Crawford and J.H. Gaddum: The distribution of substance P and 5-hydroxytryptamine in the central nervous system of the dog, Am J. Physiol. 126, 596 (1954)
- 15) Correale, P: 出村清隆, 日藥理誌 57, 370(1961)에서 引用
- 16) 出村清隆: Reserpine による腦 Serotonin の遊離に關する 研究, 日藥理誌, 57, 370 (1961)
- 17) Feldberg W. and Toh, C.C.: Distribution of 5-hydroxytryptamine (Serotonin, Enteramin) in the wall of the digestive tract. Am. J. Physiol. 119, 352 (1953)
- 18) Toh, C.C.: Release of 5-hydroxytryptamine (Serotonin) from the Dogs Gastro-intestinal tract. Am. J. Physiol. 126, 248 (1954)
- 19) 深田チエ: 腸運動亢進時, 抑制時に於ける小腸 Serotonin 含量, Enterochromaffin cell の 増減について 日藥理誌 55, 709 (1959)
- 20) 吉原林: 二三中樞神經及自律神經系 作用藥のヒスタミン及びセロトニン遊離作用の比較, 日藥理誌 55, 103 (1959)
- 21) 林定圭: 人蔘 Fraction 이 Histamine, Serotonin 遊離에 미치는影響, 서울의대잡지 4, No. 1.9 (1963)

- 22) Ratlife, C.R.: *Studies on a Simplified Method for Urine 5-Hydroxyindole-acetic acid (5 HIAA)*. *Am. J. Med. Technol. March-April 83* (1962)
- 23) Pierce Carole: *Assay and importance of Serotonin and its metabolites*. *Am. J. Clinic Pathol. 30, 230* (1958)
- 24) 李祥鍾: 正常中國人 및 精神分裂症患者의 尿中 5-hydroxyindole acetic acid 排泄에 관한 研究 第 1 編, 第 2 編, 第 3 編, 大韓內科學會雜誌 5. No. 1, 27, (1962)
- 25) Alfred Pletscher, Parkhurst A. Shore and Bernard B. Brodie: *Serotonin as a mediator of reserpine action in brain*, *J. Pharm. & Exp. Therap.*, 116, 84 (Aug. 1955)
- 26) Harry Green and John L. Sawyer: *Intracellular distribution of serotonin in rat brain*, *Arch. int. Pharmacodyn. CXXXV, No.3-4*, 426 (1962)
- 27) Bernard B. Brodie, Alfred Pletscher and Parkhurst Shore.: *Evidence that Serotonin has a role in Brain Function*, *Science*, 122, 968 (Aug, 1955)
- 28) V. Erspamer: *Pharmacology of Indolealkylamines*. *Pharmacol. Rev. 6*, 425 (1954)
- 29) W.A. Freyburger, B.E. Graham, M.M. Rapport, P.H. Seay, W.M. Govier, O.F. Swoap. and M.J. Vander Brook.: *The Pharmacology of 5-hydroxytryptamine (Serotonin)*. *J. Pharm. & Exp. Therap.* 105, 80 (1952)
- 30) Arvid Carlsson, Parkhurst A. Shore and Bernard B. Brodie.: *Release of serotonin from blood platelets by reserpine in vitro*. *J. Pharm. & Exp. Therap.*, 120, No. 3, 334 (July, 1957)
- 31) Harry Green and Rober W. Erickson: *Further studies with Tranlycypromine (monoamine oxidase inhibitor) and its interaction with Reserpine in rat brain*. *Arch. int. Pharmacodyn. CXXXV. No. 3-4*, 407 (1962)
- 32) H. Blaschko and A.S. Milton: *Oxidation of 5-hydroxytryptamine and related compounds Mytilus Gill plates*. *Brit. J. Pharm.*, 15, 42 (1960)
- 33) Herbert Weissbach, Watter Lovenberg, Betty G. Redfield and Sidney Udenfriend: *In vivo Metabolism of Serotonin and Tryptamine: Effect of monoamine Oxidase Inhibition*. *J. Pharm.* 131, 26 (1961)
- 34) William M. McIsaac and Irvin H. Page: *The Metabolism of Serotonin (5-Hydroxytryptamine)*. *J. Biol. Chem.* 234, 858 (1959)
- 35) Parkhurst A. Shore. Stanley L. Silver and Bernard B. Brodie: *Interaction of Reserpine, Serotonin, and Lysergic acid Diethylamide in Brain*. *Science*, 122, 284 (1955)